

⑩ BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

C 07 D 213/66

A 61 K 31/675

DEUTSCHES



PATENTAMT

DT 2461742 A

# Offenlegungsschrift 24 61 742

Aktenzeichen: P 24 61 7423

Anmeldetag: 28. 12. 74

Offenlegungstag: 8. 7. 76

⑨ Unionspriorität:

②② ③③ ③①

⑤ Bezeichnung: Pyridoxin-Derivate sowie deren Herstellung und Verwendung

⑦ Anmelder:  
Applicant Steigerwald Arzneimittelwerk GmbH, 6100 Darmstadt

⑦ Erfinder:  
Inventor Eurich, Rolf, Dr.med.dent., 6101 Trautheim

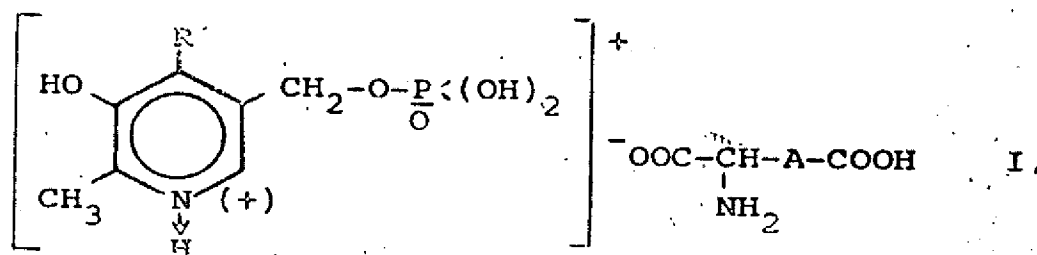
NAHGEREICHT

DE 2461742

STEIGERWALD Arzneimittelwerk G.m.b.H., Darmstadt, Havelstr. 5

# Pyridoxin-Derivate sowie deren Herstellung und Verwendung.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind die enteral und parenteral verabreichbaren Salze von Pyridoxin-5-phosphorsäureester mit Aminosäuren der allgemeinen Formel I



wobei R die Hydroxymethyl- (-CH<sub>2</sub>OH), Aminomethyl-(-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>) oder Formyl- (-CHO)-Gruppe und A Methylen (-CH<sub>2</sub>-) oder Äthylen (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-) bedeutet, die Sequenz -A-COOH aber auch durch Methyl (-CH<sub>3</sub>) ersetzt sein kann, sowie deren Natrium-, Magnesium- und Calcium-Salze, die Herstellung dieser Verbindungen und die Verwendung derselben zur Prophylaxe und Therapie von Stoffwechselstörungen insbesondere zur Beeinflussung des Lipid- und Cholesterin-haushaltes.

Seit 25 Jahren wird in den westlichen Industrieländern ein rapides Ansteigen von Stoffwechselstörungen, insbesondere Störungen des Fettstoffwechsels beobachtet, deren Hauptursache Überernährung bei gleichzeitiger Bewegungsarmut ist. Es bilden sich allmählich erhöhte Blutspiegel bestimmter Lipide aus, welche das Risiko arteriosklerotischer Herz- und peripherer Gefäßerkrankungen erhöhen. Die Fette werden dabei im Kreislauf in Form kleinster Tröpfchen (Chylomikronen), die durch einen Proteinfilm ( $\alpha$ - oder  $\beta$ -Globulin) stabilisiert sind, transportiert.

Durch den reichlichen Fleischkonsum kommt es oft zu einem Überangebot von Cholesterin, da dieses Steroid bereits in ausreichender Menge in der menschlichen Leber biosynthetisiert wird. Der natürliche Regulationsmechanismus des Cholesterinspiegels wird bei fettreicher Ernährung gestört und es kommt zu einer dauernden Erhöhung des Plasmacholesterins. Das schwerlösliche Cholesterin lagert sich u.a. in den Gefäßwand-schichten der Aorta, in der Hornhaut und Linse ab. Erhöhte Blutcholesterinspiegel sind mindestens zum Teil verantwortlich für die Entstehung von arteriellen Gefäßsklerosen. Hypercholesterinämie ist eine die Hyperlipämie stets begleitende Stoffwechselstörung, welche z.B. bei Diabetes mellitus sehr ausgeprägt sein kann.

Die pathogenetisch verschiedenen, symptomatisch ähnlichen Krankheitsbilder der Hypertriglyceridämie = Hyperlipämie, d.h. die Trübung des Serums durch Chylomikronen (neutralfettreiche Tröpfchen mit einem  $\phi$  von bis 1 nm) und die Hypercholesterinämie, d.h. die Erhöhung des Cholesteringehaltes im Blutplasma auf über 200 mg % werden unter den Sammelbegriffen Hyperlipoproteinämie bzw. Hyperlipidämie zusammengefasst. (Pschyrembel, Klin. Wörterbuch). Zur Therapie der Hyperlipoproteinämie werden bis heute vorwiegend  $\alpha$ -(p-Chlorphenoxy)-isobuttersäureäthylester, Salze von  $\alpha$ -(p-Chlorphenoxy)-isobuttersäure und Nikotinsäure sowie Nikotinsäure-Derivate und zahlreiche Kombinationspräparate verwendet.

$\alpha$ -(p-Chlorphenoxy)-isobuttersäure und dessen Derivate werden heute im Hinblick auf Wirksamkeit und Langzeitverträglichkeit als überragende Therapeutika für diese Indikation angesehen. Es kann jedoch nicht übersehen werden, dass es sich dabei um künstliche, körperfremde Chemikalien handelt, die im natürlichen Stoffwechsel nicht vorkommen. Sie können überdies mit der Zeit p-Chlorphenol freisetzen, eine Verbindung, die Chlor in stabiler aromatischer Bindung enthält. Gegen die breite Verwendung solcher naturfremder Stoffe über lange Zeiträume sind grundsätzliche Bedenken anzumelden, zumal die Dosierung von 1500 bis 2000 mg/Tag sehr hoch ist.

Die Verwendung von  $\alpha$ -(p-Chlorphenoxy)-isobuttersäure-Derivaten ist kontraindiziert bei bestehenden Leberschäden, Niereninsuffizienz, Schwangerschaft, Stillzeit und bei Kindern. Sie können Diarrhoe, Alopezie und Leukopenie verursachen und zum Anstieg der Serum-Transaminase bzw. der Kreatinphosphokinase führen, welche die Absetzung dieser Medikamente erfordern. Eventuell muss unter der Medikation von  $\alpha$ -(p-Chlorphenoxy)-isobuttersäure-Derivaten die Dosierung von Antikoagulantien reduziert werden. Sie können auch zu Nausea, Gewichtszunahme, Potenzverminderung oder Myositis-ähnlichen Syndromen führen, welche ebenfalls zur Absetzung dieser Medikamente zwingen.

Nikotinsäure und Nikotinsäure-Derivate, die früher als Lipidsenker bedeutend waren, führen häufig zu Hautrötungen, abnormen Leberfunktionstesten und verschlimmern bestehenden Diabetes.

Im Gegensatz zu diesen synthetischen Medikamenten gehören Vitamin B<sub>6</sub>: Pyridoxol, Pyridoxamin und Pyridoxal und deren Derivate zu den natürlichen und essentiellen Nahrungsbestandteilen. Pyridoxin steht in naher Beziehung zu Pyridoxamin-5-phosphat und zu Pyridoxal-5-phosphat, das für den Stoffwechsel der Aminosäuren und Transaminierungsreaktionen ein wichtiges Cofaktor ist.

Pyridoxal-phosphat ist ein Bestandteil der  $\alpha$ -Glukanphosphorylase. Nicht geklärt ist, ob sich Vitamin B<sub>6</sub> am Fettstoffwechsel beteiligt. Es wird ihm eine an der Arterienwand stattfindende Beeinflussung des Fettsäurestoffwechsels und damit eine antiarteriosklerotische Wirkung zugeschrieben. In höheren Dosen scheint es aber bei der Ratte eine leichte Erhöhung des Triglyceridspiegels des Blutes herbeizuführen, was einer antiarteriosklerotischen Wirkung von Vitamin B<sub>6</sub> widerspricht. Es soll auch die Fettverwertung und den Fettansatz begünstigen, ist von ausschlaggebender Bedeutung für den Eiweiß- bzw. Aminosäurestoffwechsel und hat eine wichtige Funktion bei der Bildung von Kohlenhydraten aus Eiweiß. Auch diese Erscheinungen widersprechen einer Beeinflussung des Fettstoffwechsels im Sinne einer hypolipidämischen oder hypocholesterinämischen Wirkung.

Von den Aminosäuren (Glutaminsäure und Asparaginsäure) ist eine hypolipidämische oder hypocholesterinämische Wirkung nicht bekannt. Im Tierversuch an der Ratte beeinflussen die Aminosäuren weder den Triglyceridspiegel noch den Cholesterinspiegel des Blutes.

Im Gegensatz dazu wurde nun gefunden, daß Pyridoxin-Derivate der allgemeinen Formel I auf Seite 1 beim Menschen eine überraschend schnelle und sehr starke hypolipidämische und hypocholesterinämische Wirkung ausüben, in einem Maße wie dies bisher nur von  $\alpha$ -(p-Chlorphenoxy)-isobuttersäure-Derivaten erreicht wurde. Bei der Behandlung mit Pyridoxin-Derivaten der allgemeinen Formel I wurden nie unerwünschte Nebenwirkungen beobachtet. Diese Verbindungen stellen demnach ideale Lipidsenker dar. Sie lassen sich bedenkenlos in all den Fällen anwenden, bei denen  $\alpha$ -(p-Chlorphenoxy)-isobuttersäure-Derivate oder Nikotinsäure und deren Derivate wegen ihren Kontraindikationen oder unerwünschten Nebenwirkungen und Begleiterscheinungen nicht oder nur unter entsprechenden strengen Vorsichtsmaßnahmen verwendet werden dürfen.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel können sowohl enteral als Tabletten, Kapseln, Dragées, Granulate, Sirupe, Suspensionen oder Suppositorien als auch in Form von Injektionslösungen verabreicht werden.

Zur Behandlung und Vorbeugung krankhafter Abläufe der Biomorphose, Lipidaustausches, des Stoffwechselsent-

gleisungen und Gefäßveränderungen bei Arteriosklerose, diabetischen Gefäßveränderungen, Störungen der Netzhautdurchblutung und Arterienentzündungen werden im Durchschnitt täglich ca 80 bis 500 mg Wirkstoff verabreicht. Sie werden zu den Hauptmahlzeiten eingenommen.

#### Pharmakologische Prüfung

Die Pyridoxin-5'-phosphorsäureester-glutamate und -asparaginate sind ausserordentlich gut verträglich.

Die DL50 oral von Pyridoxal-5'-phosphorsäureester-glutaminat beträgt 6540 mg/kg Maus.

Die übrigen einschlägigen Verbindungen weisen ähnlich gute Verträglichkeiten auf. Durch ihre nahe Verwandtschaft bzw. ihre Zugehörigkeit zu der Vitamin B<sub>6</sub>-Gruppe einerseits und den natürlichen essentiellen Aminosäuren andererseits ist die Harmlosigkeit dieser Verbindungen sichergestellt. Auch bei Langzeittherapien ist mit Nebenwirkungen oder gar Schädigungen keinesfalls zu rechnen.

#### Klinische Prüfung

Bei 20 Patienten mit erhöhtem Triglycerid- oder Neutralfettspiegel und normalem oder erhöhtem Cholesterinspiegel des Blutserums wurde das Pyridoxal-5'-phosphorsäureester-glutaminat täglich in Dosen von 180 mg oral in Form von Tabletten verabreicht.

Die Patienten wurden in 2 Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe (1) von 7 Patienten wurde während 21 Tagen, die zweite Gruppe (2) von 13 Patienten wurde während 84 Tagen behandelt. Vor, während, sowie am Schluss der Behandlung wurden der Triglycerid-oder Neutralfettspiegel und der Cholesterinspiegel des Blutes bestimmt.

Die Resultate der biochemischen Bestimmungen im Patientenblut sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengefasst.

Tabellie

- 6 -

2461742

	Triglyceride		Cholesterin	
	v o r Behandlg.	n a c h Behandlg.	v o r Behandlg.	n a c h Behandlg.
Mittelwert mg%	406,57	217,14	281,14	229,71
Senkung in %		46,59 %		18,29 %
S.D.	107,47	110,90	87,82	25,41
S.E.M.	40,62	41,91	33,19	9,60
Signifikanz		P<0,001	n.s. 0,10>P>0,05	
n = 7				

S.D. = Standard Deviation

S.E.M. = Standard Error of the Mean

Tabelle 2

	Neutralfette		n a c h 12 Wochen	Cholesterin		
	v o r Behandlg.	n a c h 8 Wochen		v o r Behandlg.	n a c h 8 Wochen	n a c h 12 Wochen
Mittelwert*	286,92	178,42		264,84	238,46	
Senkung in%		37,81 %			9,96 %	
S.D.	168,38	81,67		54,24	51,28	
S.E.M.	46,70	22,65		15,04	14,22	
Signifikanz		P<0,01			P<0,005	
	n = 13			n = 13		
Mittelwert*		179,06	123,55		237,50	232,75
Senkung in%			30,99 %			2,0 %
S.D.		78,69	39,84		53,43	58,05
S.E.M.		23,72	12,01		15,42	16,75
Signifikanz			P<0,02		n.s. 0,10>P>0,05	
	n = 11			n = 12		
Mittelwert*	287,48		123,55	264,00		232,75
Senkung in%			57,02 %			11,83 %
S.D.	177,33		39,84	56,57		58,05
S.E.M.	53,46		12,01	16,33		16,75
Signifikanz			P<0,02			P<0,01
*in mg%	n = 11			n = 12		

II

worin R die Hydroxymethyl-, Aminomethyl- oder Formyl-gruppe bedeutet, oder ein Natrium-, Magnesium- oder Calcium-Salz davon, mit der Äquimolaren oder annähernd äquimolaren Menge Glutaminsäure oder Asparaginsäure umgesetzt.

Diese Salzbildung wird gewöhnlich in Wasser oder in einem Alkohol oder einem aprotischen Lösungsmittel durchgeführt.

Entsprechend der relativen Empfindlichkeit der Eddukte und Produkte wird die Salzbildung bei niedrigen Temperaturen etwa im Bereiche von 0 bis 50° C und unter weitgehendem Lichtausschluss durchgeführt.

## BEISPIELE

### [A] Herstellung der Wirkstoffe

#### Beispiel 1

Pyridoxal-5'-phosphorsäureester-glutaminat. Mol. Gew: 394,3

26,52 g (0,1 Mol) Pyridoxal-5'-phosphat-monohydrat werden unter Lichtschutz in eine 40 - 50° C warme Suspension aus 14,7 g Glutaminsäure in ca 1 lt Wasser eingetragen. Es wird so lange gerührt, bis völlige Auflösung eingetreten ist. Nun wird die Lösung im Vakuum bei niedriger Temperatur vollständig eingedampft. Der Rückstand wird im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 39,4 g intensiv gelb gefärbtes Pulver.

Schmelzpunkt: 135° C sintern, anschliessend allmähliche Zersetzung.

Löslichkeiten: Leicht löslich in Wasser mit schwach saurer Reaktion, löslich in Methanol, wenig löslich in Äthanol, unlöslich in Chloroform, Benzol und Benzinen.

Spektrum: Breites Maximum bei 290-295 nm  
(in H<sub>2</sub>O)

#### Beispiel 2

Pyridoxal-5'-phosphorsäureester-asparaginat. Mol. Gew: 380,3

26,52 g Pyridoxal-5'-phosphat-monohydrat werden in eine warme Suspension von 13,3 g Asparaginsäure in 600 ml Methanol eingetragen und gerührt, bis völlige Auflösung eingetreten ist. Durch Zusatz von 1,2 lt Isopropanol wird das Produkt ausgefällt, abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 30 g d.s. 79 % der Theorie.

Schmelzpunkt: 135° C sintern, dann allmähliche Zersetzung.

Löslichkeiten: Leicht löslich in Wasser, löslich in Methanol, schwer löslich in Äthanol und Isopropanol, unlöslich in Diäthyläther.

Spektrum: Breites Maximum bei 290-295 nm  
(in H<sub>2</sub>O)

Die Salze von Pyridoxal-5-phosphat mit Aminosäuren sind intensiv gelb gefärbte Pulver.

### Beispiel 3

Pyridoxamin-5-phosphorsäureester-glutaminat Mol. Gew: 395,3

24,8 g (0,1 Mol) Pyridoxamin-5-phosphat [Peterson et al, J.Amer.chem.Soc.76(1954)170] werden in eine Suspension von 14,7 g Glutaminsäure in 1 lt Wasser eingetragen, bis zur völligen Auflösung gerührt und danach bei tiefer Temperatur im Vakuum vollständig eingedampft.

Ausbeute: 26,3 g hygroskopisches Pulver.

Löslichkeiten: Leicht löslich in Wasser, wenig löslich in höheren Alkoholen und den meisten organischen Lösungsmitteln.

Analog wird auch erhalten:

Pyridoxamin-5-phosphat-asparaginat, Mol.Gew: 381,3

Beide Verbindungen sind leicht löslich in Wasser. Die Lösungen reagieren annähernd neutral.

### Beispiel 4

Pyridoxol-5-phosphorsäureester-glutaminat Mol. Gew:

2,5 g Pyridoxol-5-phosphat (2-Methyl-3-hydroxy-4-hydroxy-methyl-5-pyridinmethyl-phosphorsäure) [Peterson et al, J.Amer.chem.Soc.76(1954)172] werden in eine Lösung von 1,47 g Glutaminsäure in 40 - 50° C warmem Wasser unter Lichtschutz eingetragen und so lange gerührt, bis vollständige Auflösung eingetreten ist. Das Wasser wird anschliessend durch Gefriertrocknung entfernt.

Ausbeute: 4 g weisses Pulver.

Löslichkeiten: Leicht löslich in Wasser, löslich in Methanol, wenig löslich in höheren Alkoholen und den meisten organischen Lösungsmitteln.

## [B] Formungsbeispiele

Die unter [A] beschriebenen Wirkstoffe werden zu Tabletten, Kapseln, Dragées, Granulaten, Sirupen, Suspensionen, Suppositorien oder zu Injektionslösungen verarbeitet.

### Beispiel 5

Tabletten enthaltend je 60 mg Pyridoxal-5'-phosphorsäure-ester-glutaminat.

---

6000 g Pyridoxal-5'-phosphatsäureester-glutaminat werden mit 2 lt Stärkekleister, welcher 100 g Maisstärke enthält, in einer Knetmaschine angeteigt. Wenn die feuchte Masse klebrig ist, wird sie mit etwas trockener Stärke versetzt. Danach wird sie in einer Granuliermaschine granuliert und im Vakuum getrocknet. Das fertige Granulat wird danach mit 0,5 kg Maisstärke und 25 g Magnesiumstearat vermischt und zu Tabletten mit einem Wirkstoffgehalt von 60 mg verpresst. Die Tabletten können anschliessend noch dragiert werden.

### Beispiel 6

Kapseln enthaltend je 80 mg Pyridoxal-5'-phosphorsäure-ester-glutaminat.

---

Der Wirkstoff wird mit wenig Maisstärke und Magnesiumstearat vermischt und in Kapseln abgefüllt.

### Beispiel 7

Injektionslösung enthaltend je 100 mg Pyridoxal-5'-phosphorsäureester-glutaminat.

---

100 g Pyridoxal-5'-phosphorsäureester-glutaminat werden in 200 ml Wasser gelöst, durch Zusatz von wenig Natriumhydroxid auf pH  $7,0 \pm 0,2$  eingestellt, durch einen Filter mit einem Porendurchmesser von 0,22  $\mu$ m filtriert auf ein Volumen von genau 300 ml gebracht und unter sterilen Bedingungen

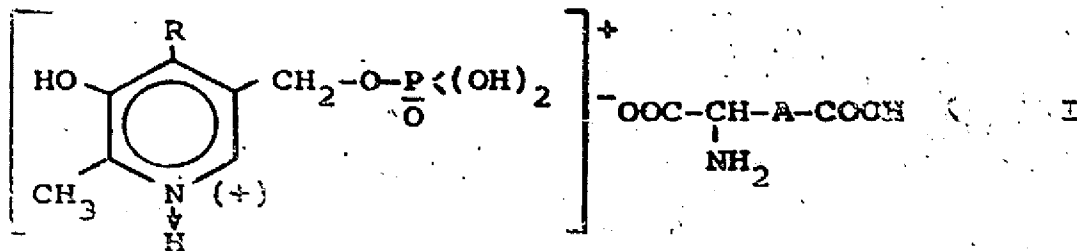
in Portionen von je 3 ml in Ampullen abgefüllt und anschliessend lyophilisiert. Die Ampullen werden zugeschmolzen. Vor Gebrauch wird das Lyophilisat mit jeweils 2,5 ml Wasser versetzt, durch Schütteln in Lösung gebracht, mit der Injektionsspritze aufgesogen und intramuskulär verabreicht.

#### [C] Anwendungsbeispiele

Pyridoxal-, Pyridoxamin- oder Pyridoxol-5'-phosphorsäureester-glutamate oder entsprechende Asparaginate werden zur Behandlung oder Vorbeugung von Hyperlipoproteinämie in Dosen von 80 bis 500 mg pro Tag verabreicht. Höhere Dosen geben keine verstärkte Wirkung und sind daher sinnlos. Gewöhnlich werden etwa 150 - 250 mg pro Tag verteilt auf 2 - 3 Einnahmen bei den Mahlzeiten oral in Kapseln oder Dragées verabreicht. Die Wirkung der Behandlung mit diesen Wirkstoffen ist auf Seiten 5 - 8 und in den Tabellen 1 und 2 quantitativ nachgewiesen.

Patentansprüche

1. Salze von Pyridoxin-5'-phosphorsäureester mit Aminosäuren der allgemeinen Formel I



worin R die Hydroxymethyl-, Aminomethyl- oder Formylgruppe und A Methylen oder Äthylen bedeutet, die Sequenz -A-COOH aber auch durch -CH<sub>3</sub> ersetzt sein kann, sowie die Natrium-, Magnesium- und Calciumsalze dieser Phosphorsäureester.

2. Pyridoxal-5'-phosphorsäureester-glutaminat sowie dessen Natrium-, Magnesium- oder Calciumsalz.
3. Pyridoxal-5'-phosphorsäureester-asparaginat.
4. Pyridoxamin-5'-phosphorsäureester-glutaminat oder -asparaginat.
5. Pyridoxol-5'-phosphorsäureester-glutaminat oder -asparaginat.
6. Das Verfahren zur Herstellung der im Patentanspruch 1 definierten Verbindungen, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Pyridoxin-5'-phosphorsäureester oder ein Natrium-, Magnesium- oder Calciumsalz davon, mit der äquimolaren oder annähernd äquimolaren Menge Glutaminsäure oder Asparaginsäure umsetzt.

NACHGEREICHT

7. Verfahren nach Patentanspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass man die Umsetzung in Wasser, in einem Alkohol oder in einem aprotischen Lösungsmittel bei einer 50° C nicht oder nicht wesentlich übersteigenden Temperatur durchführt.
8. Pharmazeutisches Präparat zur enteralen oder parenteralen Behandlung oder Vorbeugung von Hyperlipoproteinämien, dadurch gekennzeichnet, dass es als Wirkstoff ein Pyridoxin-5'-phosphorsäureester-glutaminat oder -asparaginat der allgemeinen Formel I im Patentanspruch 1 oder deren Natrium-, Magnesium- oder Calciumsalze enthält.
9. Tabletten, Kapseln oder Suppositorien geeignet zur therapeutischen Behandlung von Hyperlipoproteinämie, dadurch gekennzeichnet, dass sie ca 50 bis 250 mg eines Salzes einer Pyridoxin-5'-phosphorsäure mit Glutaminsäure oder Asparaginsäure und geeignete pharmazeutische Binder oder Trägerstoffe (Exzipientia) enthält.